



Kongeriget Danmark

Patent nr. DK/EP 1073339

Det europæiske patent på den opfindelse, som er angivet i vedlagte oversættelse af europæisk patentskrift, har fået virkning for Danmark. På patentskriftets forside findes oplysning om patenthaver, om dagen for Den Europæiske Patentmyndigheds bekendtgørelse af patentets meddelelse, om dagen for bekendtgørelse af dansk oversættelse af patentskriftet og om den europæiske indleveringsdag, som er dagen, fra hvilken patenttiden løber.

Patentets virkning for Danmark er meddelt i medfør af patentloven, jf. lovbekendtgørelse nr. 587 af 2. juli 1993.

27. januar 2003

Patent- og Varemærkestyrelsen
Økonomi- og Erhvervsministeriet

Mogens Kring
Direktør



PATENT- OG VAREMÆRKESTYRELSEN

NZAS-0032106

(19) **DANMARK**

(10) **DK/EP 1073339 T3**



Patent- og
Varemærkestyrelsen

(12) **Oversættelse af
europæisk patentskrift**

-
- (51) Int.Cl.: **A 21 D 8/04 A 21 D 2/26**
- (45) Oversættelsen bekendtgjort den: **2003-01-27**
- (80) Dato for Den Europæiske Patentmyndigheds bekendtgørelse om meddelelse af patentet: **2002-11-27**
- (86) Europæisk ansøgning nr.: **99911638.7**
- (86) Europæisk indleveringsdag: **1999-03-30**
- (87) Den europæiske ansøgnings publiceringsdag: **2001-02-07**
- (86) International ansøgning nr.: **PCT/DK99/00185**
- (87) Internationalt publikationsnr.: **WO/9953769**
- (30) Prioritet: **1998-04-20 DK 54398**
- (84) Designerede stater: **AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI NL PT SE**
-
- (73) Patenthaver: **Novozymes A/S, Krogshøjvej 36, 2880 Bagsværd, Danmark**
- (72) Opfinder: **SPENDLER, Tina, Novo Nordisk A/S, Novo Allé, 2880 Bagsværd, Danmark**
FUGLSANG, Claus, Crone, Novo Nordisk A/S, Novo Allé, 2880 Bagsværd, Danmark
NILSSON, Lone, Holeholzweg 11, CH-4102 Binningen, Schweiz
-
- (74) Fuldmægtig i Danmark: **Novozymes A/S, Krogshøjvej 36, 2880 Bagsværd, Danmark**
-
- (54) Benævnelse: **Fremstilling af dej og bagte produkter**
-
- (56) Fremdragne publikationer:
EP-A2- 0 132 289
EP-A2- 0 171 995
WO-A1-91/04669
US-A- 4 567 046
US-A- 4 654 216
JOURNAL OF FOOD SCIENCE M.R. KWEON ET AL.: 'Phosphoric Hydrolysate and Antistaling Amylase Effects on Retrogradation of Starch in Bread' vol. 59, no. 5, 1994, pages 1072 - 1076

Opfindelsens område

Opfindelsen angår en fremgangsmåde til fremstilling af en dej eller et bagt produkt fremstillet af dejen. Den angår nærmere bestemt en sådan fremgangsmåde, hvor brødet har en forbedret blødhed, både når det spises
5 samme dag, og når det spises efter flere dages opbevaring.

Opfindelsens baggrund

10 Det er velkendt, at brøds blødhed forringes under opbevaring fra bagetidspunktet til indtagelsestidspunktet. Udtrykket friskhedstab (staling) anvendes til at beskrive sådanne uønskede ændringer i brødets egenskaber. Friskhedstab resulterer i en forøgelse af krummens fasthed, et fald i krummens elasticitet og ændringer i skorpen, som bliver sej og læderagtig.

15 Enzymatisk forsinkelse af friskhedstab ved hjælp af forskellige amylaser er blevet beskrevet. US 2 615 810; US 3 026 205 og O. Silberstein, "Heat-Stable Bacterial Alpha-Amylase in Baking", Baker's Digest 38(4), Aug. 1964, pp. 66-70 og 72, beskriver således anvendelsen af alfa-amylase.
20 WO 91/04669 (Novo Nordisk) beskriver anvendelsen af en maltogen alfa-amylase fra *Bacillus stearothermophilus*. Det er også kendt at anvende β -amylase til at forsinke friskhedstab.

25 Det er også kendt at tilsætte en phospholipase til dej. US 4 567 046 og EP 171 995 (begge til Kyowa Hakko) beskriver således, at tilsætning af phospholipase A forstærker egenskaberne af dej og brød, herunder forsinkelse af friskhedstabet.

30 M.R. Kweon et al., Journal of Food Science, 59 (5), 1072-1076 (1994) beskriver effekten af 2-4 vægt-% phospholipid-hydrolysat sammen med en anti-friskhedstabs-amylase på retrogradering af stivelse i brød.

Sammendrag af opfindelsen

35 Opfinderne bekræftede, at tilsætning af en maltogen alfa-amylase reducerer hastigheden for krumme-stivnen ved opbevaring i 1-7 dage efter bagning, men de fandt ud af, at der er et behov for at forbedre blødheden i den

indledende periode efter bagning, især de første 24 timer efter bagning. De fandt yderligere ud af, at dette kan opnås ved anvendelse af en phospholipase, så at brød fremstillet ved kombineret anvendelse af en maltogen alfa-amylase og en phospholipase har forbedret blødhed, både når det spises samme dag, og når det opbevares i flere dage efter bagning. Der er ingen signifikant ændring i smagen eller duften af det bagte produkt.

Opfindelsen tilvejebringer følgelig en fremgangsmåde til fremstilling af en dej eller et bagt produkt fremstillet af dejen, som omfatter tilsætning til dejen af en maltogen alfa-amylase og en phospholipase. Opfindelsen tilvejebringer også en dej og en forblending omfattende disse ingredienser.

Detaljeret beskrivelse af opfindelsen

Maltogen alfa-amylase

Den maltogene alfa-amylase, som anvendes i opfindelsen, kan være en hvilken som helst amylase, som er virkningsfuld til forsinkelse af friskhedstabet (krumme-stivnen) for bagte produkter.

Amylasen har fortrinsvis et temperatur-optimum ved tilstedeværelse af stivelse i området 30-90 °C, fortrinsvis 50-80 °C, især 55-75 °C, f.eks. 60-70 °C. Temperatur-optimummet kan måles i en 1 % opløsning af opløselig stivelse ved pH 5,5.

Den maltogene alfa-amylase (EC 3.2.1.133) kan stamme fra *Bacillus*. En maltogen alfa-amylase fra *B. stearothermophilus* stamme NCIB 11837 er kommercielt tilgængelig fra Novo Nordisk A/S under varebetegnelsen Novamyl ®. Den er yderligere beskrevet i US 4 598 048 og US 4 604 355 og i C. Christophersen et al., Starch, bd. 50, nr. 1, 39-45 (1997).

Den maltogene alfa-amylase tilsættes i en mængde, der er virkningsfuld til forsinkelse af friskhedstabet (krumme-stivnen) for det bagte produkt. Mængden af maltogen alfa-amylase vil typisk ligge i området 0,01-10 mg enzymprotein pr. kg mel, f.eks. 1-10 mg/kg. Den maltogene alfa-amylase tilsættes fortrinsvis i en mængde på 50-5000 MANU/kg mel, f.eks. 100-1000 MANU/kg. En MANU (Maltogen Amylase Novo Enhed, Maltogenic Amylase

Novo Unit) kan defineres som den mængde enzym, der kræves til frigivelse af et μmol maltose pr. minut ved en koncentration på 10 mg maltotriose (Sigma M 8378) substrat pr. ml 0,1 M citratbuffer, pH 5,0, ved 37 °C i 30 minutter.

5

Phospholipase

Phospholipasen kan have A₁ eller A₂ aktivitet til fjernelse af fedtsyre fra phospholipidet og dannelse af et lyso-phospholipid. Den kan have eller har ikke lipase-aktivitet, dvs. aktivitet på triglycerider. Phospholipasen har fortrinsvis et temperatur-optimum i området 30-90 °C, f.eks. 30-70 °C.

15

Phospholipasen kan være af animalsk oprindelse, f.eks. fra pancreas (f.eks. bovin eller porcin pancreas), slange-gift eller bi-gift. Alternativt kan phospholipasen være af mikrobiel oprindelse, f.eks. fra filamentøse svampe, gær eller bakterier, såsom slægten eller arten *Aspergillus*, *A. niger*, *Dictyostelium*, *D. discoideum*, *Mucor*, *M. javanicus*, *M. mucedo*, *M. subtilissimus*, *Neurospora*, *N. crassa*, *Rhizomucor*, *R. pusillus*, *Rhizopus*, *R. arrhizus*, *R. japonicus*, *R. stolonifer*, *Sclerotinia*, *S. libertiana*, *Trichophyton*, *T. rubrum*, *Whetzelinia*, *W. sclerotiorum*, *Bacillus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Citrobacter*, *C. freundii*, *Enterobacter*, *E. aerogenes*, *E. cloacae*, *Edwardsiella*, *E. tarda*, *Erwinia*, *E. herbicola*, *Escherichia*, *E. coli*, *Klebsiella*, *K. pneumoniae*, *Proteus*, *P. vulgaris*, *Providencia*, *P. stuartii*, *Salmonella*, *S. typhimurium*, *Serratia*, *S. liquefaciens*, *S. marcescens*, *Shigella*, *S. flexneri*, *Streptomyces*, *S. violeceoruber*, *Yersinia* eller *Y. enterocolitica*. En foretrukken phospholipase stammer fra en stamme af *Fusarium*, især *F. oxysporum*, f.eks. fra stamme DSM 2672, som beskrevet i samtidigt verserende PCT/DK 97/00557.

30

Phospholipasen tilsættes i en mængde, som forbedrer blødheden af brødet under den indledende periode efter bagning, især de første 24 timer. Mængden af phospholipase vil typisk ligge i området 0,01-10 mg enzymprotein pr. kg mel (f.eks. 0,1-5 mg/kg) eller 200-5000 LEU/kg mel (f.eks. 500-2000 LEU/kg).

35

En phospholipase med lipase-aktivitet tilsættes fortrinsvis i en mængde, som svarer til en lipase-aktivitet på 20-1000 LU/kg mel, især 50-500 LU/kg. En LU

(Lipase Enhed, Lipase Unit) er defineret som den mængde enzym, der kræves til frigivelse af 1 μmol smørsyre pr. minut ved 30,0 °C; pH 7,0; med gummi arabicum som emulgator og tributyrin som substrat.

5 Phospholipase-aktivitet (LEU)

I LEU-assayet bestemmes phospholipase-aktiviteten ud fra evnen til at hydrolysere lecithin ved pH 8,0, 40 °C. Hydrolysereaktionen kan efterfølges af titrering med NaOH med en reaktionstid på 2 minutter. Phospholipasen fra porcin pancreas har en aktivitet på 510 LEU/mg (taget som standard), og phospholipasen fra *Fusarium oxysporum* har en aktivitet på 1540 LEU/mg.

10 Phospholipid

15 Phospholipasen kan virke på phospholipid tilvejebragt af mel i dejen, så separat tilsætning af et phospholipid er ikke nødvendigt. Den blødgørende virkning kan imidlertid forstærkes ved tilsætning af et phospholipid, fortrinsvis i en mængde på 0,05-20 g/kg mel, f.eks. 0,1-10 g/kg. Phospholipidet kan være et diacyl-glycero-phospholipid, såsom lecithin eller cephalin.

20 Dej

Dejen ifølge opfindelsen omfatter i det væsentlige groft hvedemel eller fint hvedemel og/eller andre typer af groft mel, fint mel eller stivelse, såsom fint majsstivelse, majsstivelse, groft rugmel, fint rugmel, fint havremel, groft havremel, fint sojamel, groft durra-mel, fint durra-mel, groft kartoffelmel, fint kartoffelmel eller kartoffelstivelse.

Dejen ifølge opfindelsen kan være frisklavet, frossen eller forbagt.

30 Dejen ifølge opfindelsen er normalt en hævet dej eller en dej, som skal underkastes hævnning. Dejen kan hæves på forskellige måder, såsom ved tilsætning af kemiske hævemidler, f.eks. natriumbicarbonat, eller ved tilsætning af en surdej (gærdej), men det foretrækkes at hæve dejen ved tilsætning af en egnet gærkultur, såsom en kultur af *Saccharomyces cerevisiae* (bagegær), f.eks. en kommercielt tilgængelig stamme af *S. cerevisiae*.

Dejen kan også omfatte andre traditionelle dej-ingredienser, f.eks.: proteiner, såsom mælkepulver, gluten og soja; æg (enten hele æg, æggeblommer eller æggehvinder); et oxidationsmiddel, såsom ascorbinsyre, kaliumbromat, kaliumiodat, azodicarbonamid (ADA) eller ammoniumpersulfat; en aminosyre, såsom L-cystein; en sukker-art; et salt, såsom natriumchlorid, calciumacetat, natriumsulfat eller calciumsulfat.

Dejen kan omfatte fedtstof (triglycerid), såsom fedtgranulat eller klaret fedtstof (shortening), men opfindelsen er især anvendelig til en dej, hvor der er tilsat mindre end 1 vægt-% fedtstof (triglycerid), og især til en dej, som er fremstillet uden tilsætning af fedtstof.

Dejen kan yderligere omfatte en emulgator, såsom mono- eller diglycerider, diacetylvinsyre-estere af mono- eller diglycerider, sukker-estere af fedtsyrer, polyglycerol-estere af fedtsyrer, mælkesyre-estere af monoglycerider, eddikesyre-estere af monoglycerider, polyoxyethylenstearater eller lysolecithin, men opfindelsen er især anvendelig til en dej, som er fremstillet uden tilsætning af emulgatorer (bortset fra eventuelt phospholipid).

Yderligere enzym

Der kan eventuelt anvendes et yderligere enzym sammen med den maltogene alfa-amylase og phospholipasen. Det yderligere enzym kan være en anden amylase, såsom en amyloglucosidase, en beta-amylase, en cyclodextrin-glucanotransferase, eller det yderligere enzym kan være en peptidase, navnlig en exopeptidase, en transglutaminase, en lipase, en cellulase, en hemicellulase, navnlig en pentosanase, såsom xylanase, en protease, en proteindisulfid-isomerase, f.eks. en proteindisulfid-isomerase som beskrevet i WO 95/00636, en glycosyltransferase, et forgrenings-enzym (1,4- α -glucan forgrenings-enzym), en 4- α -glucanotransferase (dextrin-glycosyltransferase) eller en oxidoreductase, f.eks. en peroxidase, en laccase, en glucose-oxidase, en pyranose-oxidase, en lipoxygenase, en L-aminosyre-oxidase eller en carbohydrat-oxidase.

Det yderligere enzym kan have en hvilken som helst oprindelse, herunder pattedyrs- og plante-oprindelse, og fortrinsvis mikrobiel (bakteriel, gær- eller

fungale) oprindelse, og kan opnås ved teknikker, der er traditionelt anvendt inden for området.

5 Xylanasen er fortrinsvis af mikrobiel oprindelse og stammer f.eks. fra en bakterie eller en svamp, såsom en stamme af *Aspergillus*, navnlig af *A. aculeatus*, *A. niger* (sml. WO 91/19782), *A. awamori* (WO 91/18977) eller *A. tubigensis* (WO 92/ 01793), fra en stamme af *Trichoderma*, f.eks. *T. reesei*, eller fra en stamme af *Humicola*, f.eks. *H. insolens* (WO 92/17573, hvis indhold herved medtages som reference). Pentopan® og Novozym 384®
10 (begge fra Novo Nordisk A/S) er kommercielt tilgængelige xylanase-præparater produceret af *Trichoderma reesei*.

Amyloglucosidasen kan være en *A. niger* amyloglucosidase (såsom AMG™, som er tilgængelig fra Novo Nordisk A/S, Danmark). Andre egnede
15 amylase-produkter indbefatter Grindamyl® A 1000 eller A 5000 (tilgængelig fra Grindsted Products, Danmark) og Amylase® H eller Amylase® P (tilgængelig fra Gist-Brocades, Holland).

Glucose-oxidasen kan være en fungal glucose-oxidase, navnlig en
20 *Aspergillus niger* glucose-oxidase (såsom Gluzyme®, som er tilgængelig fra Novo Nordisk A/S, Danmark).

Proteasen kan navnlig være Neutrase® (som er tilgængelig fra Novo Nordisk A/S, Danmark).

25 Lipasen kan stamme fra en stamme af *Thermomyces* (*Humicola*), *Rhizomucor*, *Candida*, *Aspergillus*, *Rhizopus* eller *Pseudomonas*, navnlig fra *Thermomyces lanuginosus* (*Humicola lanuginosa*), *Rhizomucor miehei*, *Candida antarctica*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus delemar* eller *Rhizopus arrhizus* eller *Pseudomonas cepacia*. I specifikke udførelsesformer kan lipasen være Lipase A eller Lipase B stammende fra *Candida antarctica* som beskrevet i WO 88/02775, eller lipasen kan stamme fra *Rhizomucor miehei* som beskrevet i EP 238 023 eller *Humicola lanuginosa* beskrevet i EP 305 216 eller *Pseudomonas cepacia* som beskrevet i EP 214 761 og WO
30 89/01032.
35

Bagt produkt

5 Fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan anvendes til en hvilken som helst type af bagt produkt fremstillet af dej, som enten har blød eller sprød karakter og enten er af hvid, lys eller mørk type. Eksempler er brød (navnlig hvidt brød, fuldkomsbrød eller rugbrød), typisk i form af formbrød eller rullet brød, brød af flute-type, pitabrød, tortillas, kager, pandekager, kiks, småkager, tærtelåg, knækbrød, dampkogt brød, pizza og lignende.

10 Forblanding

Den foreliggende opfindelse angår yderligere en forblanding omfattende mel sammen med en maltogen alfa-amylase, en phospholipase og et phospholipid. Forblandingen kan indeholde andre dej-forbedrende og/eller 15 brød-forbedrende additiver, f.eks. hvilke som helst af de additiver, herunder enzymer, som er nævnt ovenfor.

Enzympræparat

20 Opfindelsen tilvejebringer et enzympræparat omfattende amylase og en phospholipase til anvendelse som et bageadditiv i fremgangsmåden ifølge opfindelsen. Enzympræparatet foreligger fortrinsvis i form af et granulat eller agglomereret pulver. Det har fortrinsvis en snæver partikelstørrelsesfordeling, hvor mere end 95 % (på vægtbasis) af partiklerne 25 er inden for området fra 25 til 500 µm.

Granulater og agglomererede pulvere kan fremstilles ved traditionelle fremgangsmåder, f.eks. ved at sprøjte amylase på en bærer i en fluid-bed granulator. Bæreren kan bestå af partikelformige kerner med en egnet 30 partikelstørrelse. Bæreren kan være opløselig eller uopløselig, f.eks. et salt (såsom NaCl eller natriumsulfat), en sukker-art (såsom saccharose eller lactose), en sukkeralkohol (såsom sorbitol), stivelse, ris, majsgryn eller soja.

EksemplerEksempel 1

5 Der blev bagt brød med maltogen alfa-amylase, phospholipase og phospholipid. Som reference blev der også bagt brød uden en eller flere af disse bestanddele.

10 Phospholipidet var lecithin i en dosering på 10 g/kg. Phospholipasen var fra *Fusarium oxysporum* anvendt i en dosering på 50, 250 eller 500 LU/kg, som svarer til eller 0,04, 0,19 eller 0,38 mg/kg. Anti-friskhedstabs-amylasen var en maltogen alfa-amylase fra *B. stearothermophilus* (Novamyl) i en dosering på 750 MANU/kg (1 mg/kg). Alle doseringer i eksemplerne var baseret på kg mel.

15 Der blev fremstillet dej ifølge en europæisk standardprocedure for direkte dej med 50 g gær pr. kg mel og 40 ppm ascorbinsyre. Dejene blev skaleret til 350 g og bagt i skåle med låg.

20 Krumme-fastheden blev målt ved anvendelse af en tekstur-analysator TA-XT2 fra Stable Micro Systems. Tekstur blev målt ifølge en modificeret ACCA metode (American Cereal Chemists' Association). Disse målinger blev foretaget efter 0 dage (ca. 2 timer efter bagning) og igen efter 1, 2 og 7 dages opbevaring (pakket i dobbelte plastikposer og opbevaret ved 22 °C).

25 Resultaterne er vist som fasthed imod additiv og opbevaringstid:

Additiver	Phospholipase-doserin g (LU/kg)	2 timer	1 dag	2 dage	7 dage
Opfindelse:	50	316	417	517	868
Maltogen	250	279	371	455	790
alfa-amylase + phospholipase + phospholipid	500	248	324	410	752
Reference:					
Ingen (kontrol)	0	296	875	1207	2162
Maltogen alfa-amylase	0	469	563	801	1083
Phospholipid + phospholipase	50	208	470	782	1560
	250	231	467	721	1424
	500	233	420	649	1303

Eksempel 2

- 5 Der blev udført en bage-test som i eksempel 1, men med doseringer på 0,5 mg/kg af phospholipasen (770 LEU/kg) og 1 g/kg af phospholipidet. Resultaterne er givet som fasthed efter opbevaring, og til sammenligning er fastheden også udtrykt i % af kontrollen.

Additiver	2 timer	5 timer	12 timer	20 timer	dag 2	dag 3
Opfindelse: Maltogen alfa- amylase + phospholipas e + phospholipid	181 (78%)	195 (65%)	223 (51%)	241 (46%)	277 (34%)	303 (32%)
Reference: Ingen (kontrol)	233 (100 %)	302 (100%)	434 (100%)	526 (100%)	824 (100%)	959 (100 %)
Maltogen alfa- amylase	372 (160 %)	468 (155%)	518 (119%)	482 (92%)	547 (66%)	637 (66%)
Phospholipid + phospholipas e	144 (62%)	144 (47%)	212 (49%)	258 (49%)	364 (44%)	482 (50%)

Eksempel 3

5

Der blev udført en bage-test som i eksempel 1 og 2 under anvendelse af en anden phospholipase. Phospholipasen var fra porcin pancreas i en dosering på 2 mg/kg (1020 LEU/mg). Doseringerne af den maltogene alfa-amylase og phospho-lipidet var som i eksempel 2, og resultaterne er vist som i eksempel 2:

Additiver	2 timer	5 timer	12 timer	20 timer	dag 2	dag 3
Opfindelse: Maltogen alfa- amylase + phospholipase + phospholipid	342 (122 %)	411 (103%)	420 (80%)	431 (73%)	485 (52%)	559 (48%)
Reference: Ingen (kontrol)	281 (100 %)	398 (100%)	524 (100%)	588 (100%)	937 (100%)	1157 (100%)
Maltogen alfa- amylase	409 (146 %)	490 (123%)	514 (98%)	526 (89%)	625 (67%)	673 (58%)
Phospholipid + phospholipase	218 (76%)	260 (65%)	367 (70%)	472 (80%)	668 (71%)	906 (78%)

Resultaterne fra eksempel 1-3 viser, at tilsætning af maltogen alfa-amylase forsinket krumme-stivnen under opbevaring, men forøger den indledende fasthed i sammenligning med kontrollen uden additiver. Tilsætning af phospholipid + phospholipase ifølge opfindelsen er virkningsfuld til undgåelse af den forøgede indledende fasthed og reducerer hastigheden for krumme-stivnen under opbevaring yderligere i sammenligning med den maltogene alfa-amylase alene.

Eksempel 4

Der blev bagt formbrød med og uden phospholipid (lecithin) som angivet nedenfor. Phospholipasen var *F. oxysporum* anvendt i en dosering på 1 mg/kg (1540 LEU/kg). Den maltogene alfa-amylase og bagebetingelserne

var som beskrevet i eksempel 1. Resultaterne er givet som fasthed efter opbevaring:

	Maltogen alfa- amylase MANU/kg	Phospholipase mg/kg	Phospholipid g/kg	Fasthed		
				2 timer	1 dag	3 dage
Kontrol	0	0	0	294	687	1179
Opfindelse	750	1	10	200	229	277
	750	1	2	167	218	287
	750	1	1	167	232	305
	750	1	0,5	189	269	333
	750	1	0,1	196	260	381
	750	1	0	199	264	372

- 5 Resultaterne viser, at tilsætning af maltogen alfa-amylase og phospholipase klart forbedrer blødheden, både den indledende blødhed (2 timer) og blødhed efter opbevaring (3 dage). Den blødgørende virkning kan forbedres yderligere ved tilsætning af phospholipid. Den optimale dosering ser ud til at være ca. 1 mg/kg af phospholipid.

Patentkrav:

- 5 1. Fremgangsmåde til fremstilling af en dej eller et bagt produkt fremstillet af dejen, omfattende inkorporering i dejen af en maltogen alfa-amylase og en phospholipase.
2. Fremgangsmåde ifølge det foregående krav, hvorved den maltogene alfa-amylase har optimal aktivitet i brød ved 70-90 °C.
- 10 3. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af de foregående krav, hvorved den maltogene alfa-amylase er fra *B. stearothermophilus*, fortrinsvis fra stamme NCIB 11837.
- 15 4. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvorved phospholipasen har et temperatur-optimum på 30-70 °C.
- 20 5. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvorved phospholipasen er fungal, fortrinsvis fra *Fusarium*, mest fortrinsvis fra *F. oxysporum*.
6. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, som yderligere omfatter inkorporering af et phospholipid (fortrinsvis lecithin) i dejen.
- 25 7. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, som ikke omfatter tilsætning af fedtstof.
8. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, som ikke omfatter tilsætning af lysophospholipid.
- 30 9. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, som ikke omfatter tilsætning af emulgatorer ud over phospholipidet.
- 35 10. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst foregående krav, hvorved dejen i det væsentlige består af mel, vand, gær, salt og sukker.
11. Dej, som omfatter en maltogen alfa-amylase og en phospholipase.

12. Forblanding til dej omfattende mel, en maltogen alfa-amylase og en phospholipase.

5 13. Enzympræparat, som omfatter en maltogen alfa-amylase og en phospholipase.

14. Præparat ifølge det foregående krav, som yderligere omfatter et phospholipid, fortrinsvis lecithin.

10 15. Præparat ifølge krav 13 eller 14, som yderligere omfatter en hemicellulase, fortrinsvis en pentosanase, mere fortrinsvis en xylanase.

16. Præparat ifølge et hvilket som helst af kravene 13-15, som er et granulat eller et agglomereret pulver.

15 17. Præparat ifølge et hvilket som helst af kravene 13-16, hvor mere end 95 % (på vægtbasis) har en partikelstørrelse på mellem 25 og 500 µm.